

**CLEANING COMPOSITIONS CONTAINING  
MULTIPLY-SUBSTITUTED PROTEASE VARIANTS**

5

**Abstract**

The present invention relates to cleaning compositions comprising a protease variant. One cleaning composition comprises a protease variant including a substitution of an amino acid residue with another naturally occurring amino acid residue at an amino acid residue position corresponding to position 103 of *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin in combination with a substitution of an amino acid residue with another naturally occurring amino acid residue at one or more amino acid residue positions corresponding to positions 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 10 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 15 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 20 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 and 275 of *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin; wherein when said protease variant includes a substitution of amino acid residues at positions corresponding to positions 103 and 76, there is also a substitution of an amino acid residue at one or more amino acid residue positions other than amino acid residue positions corresponding to positions 27, 99, 101, 104, 107, 25 109, 123, 128, 166, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 or 274 of *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin; and one or more cleaning adjunct materials. Another cleaning composition comprises a protease variant including a substitution of an amino acid residue with another naturally occurring amino acid residue at one or more amino acid residue positions corresponding to positions 62, 212, 230, 232, 252 and 257 of *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin; and one or more cleaning adjunct materials. Methods for 30 using the cleaning compositions are also provided.

100-120-130-140-150-160-170-180-190-200-210-220-230-240-250-260-270-280-290-300-310-320-330-340-350-360-370-380-390-400-410-420-430-440-450-460-470-480-490-500-510-520-530-540-550-560-570-580-590-600-610-620-630-640-650-660-670-680-690-700-710-720-730-740-750-760-770-780-790-800-810-820-830-840-850-860-870-880-890-900-910-920-930-940-950-960-970-980-990-1000-1010-1020-1030-1040-1050-1060-1070-1080-1090-1100-1110-1120-1130-1140-1150-1160-1170-1180-1190-1200-1210-1220-1230-1240-1250-1260-1270-1280-1290-1300-1310-1320-1330-1340-1350-1360-1370-1380-1390-1400-1410-1420-1430-1440-1450-1460-1470-1480-1490-1500-1510-1520-1530-1540-1550-1560-1570-1580-1590-1600-1610-1620-1630-1640-1650-1660-1670-1680-1690-1700-1710-1720-1730-1740-1750-1760-1770-1780-1790-1800-1810-1820-1830-1840-1850-1860-1870-1880-1890-1900-1910-1920-1930-1940-1950-1960-1970-1980-1990-2000-2010-2020-2030-2040-2050-2060-2070-2080-2090-2100-2110-2120-2130-2140-2150-2160-2170-2180-2190-2200-2210-2220-2230-2240-2250-2260-2270-2280-2290-2300-2310-2320-2330-2340-2350-2360-2370-2380-2390-2400-2410-2420-2430-2440-2450-2460-2470-2480-2490-2500-2510-2520-2530-2540-2550-2560-2570-2580-2590-2600-2610-2620-2630-2640-2650-2660-2670-2680-2690-2700-2710-2720-2730-2740-2750-2760-2770-2780-2790-2700-2710-2720-2730-2740-2750-2760-2770-2780-2790-2800-2810-2820-2830-2840-2850-2860-2870-2880-2890-2800-2810-2820-2830-2840-2850-2860-2870-2880-2890-2900-2910-2920-2930-2940-2950-2960-2970-2980-2990-2900-2910-2920-2930-2940-2950-2960-2970-2980-2990-3000-3010-3020-3030-3040-3050-3060-3070-3080-3090-3000-3010-3020-3030-3040-3050-3060-3070-3080-3090-3100-3110-3120-3130-3140-3150-3160-3170-3180-3190-3100-3110-3120-3130-3140-3150-3160-3170-3180-3190-3200-3210-3220-3230-3240-3250-3260-3270-3280-3290-3200-3210-3220-3230-3240-3250-3260-3270-3280-3290-3300-3310-3320-3330-3340-3350-3360-3370-3380-3390-3300-3310-3320-3330-3340-3350-3360-3370-3380-3390-3400-3410-3420-3430-3440-3450-3460-3470-3480-3490-3400-3410-3420-3430-3440-3450-3460-3470-3480-3490-3500-3510-3520-3530-3540-3550-3560-3570-3580-3590-3500-3510-3520-3530-3540-3550-3560-3570-3580-3590-3600-3610-3620-3630-3640-3650-3660-3670-3680-3690-3600-3610-3620-3630-3640-3650-3660-3670-3680-3690-3700-3710-3720-3730-3740-3750-3760-3770-3780-3790-3700-3710-3720-3730-3740-3750-3760-3770-3780-3790-3800-3810-3820-3830-3840-3850-3860-3870-3880-3890-3800-3810-3820-3830-3840-3850-3860-3870-3880-3890-3900-3910-3920-3930-3940-3950-3960-3970-3980-3990-3900-3910-3920-3930-3940-3950-3960-3970-3980-3990-4000-4010-4020-4030-4040-4050-4060-4070-4080-4090-4000-4010-4020-4030-4040-4050-4060-4070-4080-4090-4100-4110-4120-4130-4140-4150-4160-4170-4180-4190-4100-4110-4120-4130-4140-4150-4160-4170-4180-4190-4200-4210-4220-4230-4240-4250-4260-4270-4280-4290-4200-4210-4220-4230-4240-4250-4260-4270-4280-4290-4300-4310-4320-4330-4340-4350-4360-4370-4380-4390-4300-4310-4320-4330-4340-4350-4360-4370-4380-4390-4400-4410-4420-4430-4440-4450-4460-4470-4480-4490-4400-4410-4420-4430-4440-4450-4460-4470-4480-4490-4500-4510-4520-4530-4540-4550-4560-4570-4580-4590-4500-4510-4520-4530-4540-4550-4560-4570-4580-4590-4600-4610-4620-4630-4640-4650-4660-4670-4680-4690-4600-4610-4620-4630-4640-4650-4660-4670-4680-4690-4700-4710-4720-4730-4740-4750-4760-4770-4780-4790-4700-4710-4720-4730-4740-4750-4760-4770-4780-4790-4800-4810-4820-4830-4840-4850-4860-4870-4880-4890-4800-4810-4820-4830-4840-4850-4860-4870-4880-4890-4900-4910-4920-4930-4940-4950-4960-4970-4980-4990-4900-4910-4920-4930-4940-4950-4960-4970-4980-4990-5000-5010-5020-5030-5040-5050-5060-5070-5080-5090-5000-5010-5020-5030-5040-5050-5060-5070-5080-5090-5100-5110-5120-5130-5140-5150-5160-5170-5180-5190-5100-5110-5120-5130-5140-5150-5160-5170-5180-5190-5200-5210-5220-5230-5240-5250-5260-5270-5280-5290-5200-5210-5220-5230-5240-5250-5260-5270-5280-5290-5300-5310-5320-5330-5340-5350-5360-5370-5380-5390-5300-5310-5320-5330-5340-5350-5360-5370-5380-5390-5400-5410-5420-5430-5440-5450-5460-5470-5480-5490-5400-5410-5420-5430-5440-5450-5460-5470-5480-5490-5500-5510-5520-5530-5540-5550-5560-5570-5580-5590-5500-5510-5520-5530-5540-5550-5560-5570-5580-5590-5600-5610-5620-5630-5640-5650-5660-5670-5680-5690-5600-5610-5620-5630-5640-5650-5660-5670-5680-5690-5700-5710-5720-5730-5740-5750-5760-5770-5780-5790-5700-5710-5720-5730-5740-5750-5760-5770-5780-5790-5800-5810-5820-5830-5840-5850-5860-5870-5880-5890-5800-5810-5820-5830-5840-5850-5860-5870-5880-5890-5900-5910-5920-5930-5940-5950-5960-5970-5980-5990-5900-5910-5920-5930-5940-5950-5960-5970-5980-5990-6000-6010-6020-6030-6040-6050-6060-6070-6080-6090-6000-6010-6020-6030-6040-6050-6060-6070-6080-6090-6100-6110-6120-6130-6140-6150-6160-6170-6180-6190-6100-6110-6120-6130-6140-6150-6160-6170-6180-6190-6200-6210-6220-6230-6240-6250-6260-6270-6280-6290-6200-6210-6220-6230-6240-6250-6260-6270-6280-6290-6300-6310-6320-6330-6340-6350-6360-6370-6380-6390-6300-6310-6320-6330-6340-6350-6360-6370-6380-6390-6400-6410-6420-6430-6440-6450-6460-6470-6480-6490-6400-6410-6420-6430-6440-6450-6460-6470-6480-6490-6500-6510-6520-6530-6540-6550-6560-6570-6580-6590-6500-6510-6520-6530-6540-6550-6560-6570-6580-6590-6600-6610-6620-6630-6640-6650-6660-6670-6680-6690-6600-6610-6620-6630-6640-6650-6660-6670-6680-6690-6700-6710-6720-6730-6740-6750-6760-6770-6780-6790-6700-6710-6720-6730-6740-6750-6760-6770-6780-6790-6800-6810-6820-6830-6840-6850-6860-6870-6880-6890-6800-6810-6820-6830-6840-6850-6860-6870-6880-6890-6900-6910-6920-6930-6940-6950-6960-6970-6980-6990-6900-6910-6920-6930-6940-6950-6960-6970-6980-6990-7000-7010-7020-7030-7040-7050-7060-7070-7080-7090-7000-7010-7020-7030-7040-7050-7060-7070-7080-7090-7100-7110-7120-7130-7140-7150-7160-7170-7180-7190-7100-7110-7120-7130-7140-7150-7160-7170-7180-7190-7200-7210-7220-7230-7240-7250-7260-7270-7280-7290-7200-7210-7220-7230-7240-7250-7260-7270-7280-7290-7300-7310-7320-7330-7340-7350-7360-7370-7380-7390-7300-7310-7320-7330-7340-7350-7360-7370-7380-7390-7400-7410-7420-7430-7440-7450-7460-7470-7480-7490-7400-7410-7420-7430-7440-7450-7460-7470-7480-7490-7500-7510-7520-7530-7540-7550-7560-7570-7580-7590-7500-7510-7520-7530-7540-7550-7560-7570-7580-7590-7600-7610-7620-7630-7640-7650-7660-7670-7680-7690-7600-7610-7620-7630-7640-7650-7660-7670-7680-7690-7700-7710-7720-7730-7740-7750-7760-7770-7780-7790-7700-7710-7720-7730-7740-7750-7760-7770-7780-7790-7800-7810-7820-7830-7840-7850-7860-7870-7880-7890-7800-7810-7820-7830-7840-7850-7860-7870-7880-7890-7900-7910-7920-7930-7940-7950-7960-7970-7980-7990-7900-7910-7920-7930-7940-7950-7960-7970-7980-7990-8000-8010-8020-8030-8040-8050-8060-8070-8080-8090-8000-8010-8020-8030-8040-8050-8060-8070-8080-8090-8100-8110-8120-8130-8140-8150-8160-8170-8180-8190-8100-8110-8120-8130-8140-8150-8160-8170-8180-8190-8200-8210-8220-8230-8240-8250-8260-8270-8280-8290-8200-8210-8220-8230-8240-8250-8260-8270-8280-8290-8300-8310-8320-8330-8340-8350-8360-8370-8380-8390-8300-8310-8320-8330-8340-8350-8360-8370-8380-8390-8400-8410-8420-8430-8440-8450-8460-8470-8480-8490-8400-8410-8420-8430-8440-8450-8460-8470-8480-8490-8500-8510-8520-8530-8540-8550-8560-8570-8580-8590-8500-8510-8520-8530-8540-8550-8560-8570-8580-8590-8600-8610-8620-8630-8640-8650-8660-8670-8680-8690-8600-8610-8620-8630-8640-8650-8660-8670-8680-8690-8700-8710-8720-8730-8740-8750-8760-8770-8780-8790-8700-8710-8720-8730-8740-8750-8760-8770-8780-8790-8800-8810-8820-8830-8840-8850-8860-8870-8880-8890-8800-8810-8820-8830-8840-8850-8860-8870-8880-8890-8900-8910-8920-8930-8940-8950-8960-8970-8980-8990-8900-8910-8920-8930-8940-8950-8960-8970-8980-8990-9000-9010-9020-9030-9040-9050-9060-9070-9080-9090-9000-9010-9020-9030-9040-9050-9060-9070-9080-9090-9100-9110-9120-9130-9140-9150-9160-9170-9180-9190-9100-9110-9120-9130-9140-9150-9160-9170-9180-9190-9200-9210-9220-9230-9240-9250-9260-9270-9280-9290-9200-9210-9220-9230-9240-9250-9260-9270-9280-9290-9300-9310-9320-9330-9340-9350-9360-9370-9380-9390-9300-9310-9320-9330-9340-9350-9360-9370-9380-9390-9400-9410-9420-9430-9440-9450-9460-9470-9480-9490-9400-9410-9420-9430-9440-9450-9460-9470-9480-9490-9500-9510-9520-9530-9540-9550-9560-9570-9580-9590-9500-9510-9520-9530-9540-9550-9560-9570-9580-9590-9600-9610-9620-9630-9640-9650-9660-9670-9680-9690-9600-9610-9620-9630-9640-9650-9660-9670-9680-9690-9700-9710-9720-9730-9740-9750-9760-9770-9780-9790-9700-9710-9720-9730-9740-9750-9760-9770-9780-9790-9800-9810-9820-9830-9840-9850-9860-9870-9880-9890-9800-9810-9820-9830-9840-9850-9860-9870-9880-9890-9900-9910-9920-9930-9940-9950-9960-9970-9980-9990-9900-9910-9920-9930-9940-9950-9960-9970-9980-9990-10000-10010-10020-10030-10040-10050-10060-10070-10080-10090-10000-10010-10020-10030-10040-10050-10060-10070-10080-10090-10100-10110-10120-10130-10140-10150-10160-10170-10180-10190-10100-10110-10120-10130-10140-10150-10160-10170-10180-10190-10200-10210-10220-10230-10240-10250-10260-10270-10280-10290-10200-10210-10220-10230-10240-10250-10260-10270-10280-10290-10300-10310-10320-10330-10340-10350-10360-10370-10380-10390-10300-10310-10320-10330-10340-10350-10360-10370-10380-10390-10400-10410-10420-10430-10440-10450-10460-10470-10480-10490-10400-10410-10420-10430-10440-10450-10460-10470-10480-10490-10500-10510-10520-10530-10540-10550-10560-10570-10580-10590-10500-10510-10520-10530-10540-10550-10560-10570-10580-10590-10600-10610-10620-10630-10640-10650-10660-10670-10680-10690-10600-10610-10620-10630-10640-10650-10660-10670-10680-10690-10700-10710-10720-10730-10740-10750-10760-10770-10780-10790-10700-10710-10720-10730-10740-10750-10760-10770-10780-10790-10800-10810-10820-10830-10840-10850-10860-10870-10880-10890-10800-10810-10820-10830-10840-10850-10860-10870-10880-10890-10900-10910-10920-10930-10940-10950-10960-10970-10980-10990-10900-10910-10920-10930-10940-10950-10960-10970-10980-10990-11000-11010-11020-11030-11040-11050-11060-11070-11080-11090-11000-11010-11020-11030-11040-11050-11060-11070-11080-11090-11100-11110-11120-11130-11140-11150-11160-11170-11180-11190-11100-11110-11120-11130-11140-11150-11160-11170-11180-11190-11200-11210-11220-11230-11240-11250-11260-11270-11280-11290-11200-11210-11220-11230-11240-11250-11260-11270-11280-11290-11300-11310-11320-11330-11340-11350-11360-11370-11380-113